

Aus der
Universitäts- u. Poliklinik für Haut- und Geschlechtskrankheiten
zu Freiburg im Breisgau.
Direktor: Professor Dr. A. Stühmer.

Beitrag zur Nährbodenfrage bei der Züchtung von pathogenen Hautpilzen.

Inaugural-Dissertation

zur
Erlangung der Doktorwürde in der Zahnheilkunde
vorgelegt der
Hohen Medizinischen Fakultät
der
Albert - Ludwigs - Universität
zu Freiburg im Breisgau

von

Paul Kränzlin
aus Gelsenkirchen i.W.

Freiburg 1935.

Buchdruckerei F. L. Wagener, Lemgo i. L.

D e k a n : Prof. Dr. Kapfhammer.

R e f. : Prof. Dr. Schmidt.

Gedruckt mit Genehmigung der medizinischen

Fakultät der Universität Freiburg i. B.



Im Jahre 1910 sprach S a b o u r a u d in seinem Werke „Les Teignes“ den Wunsch aus, daß seine Nährböden, die er vierzehn Jahre lang zur Züchtung von Pilzen gebraucht hätte, als internationales Kulturmateriel (Milieu d'épreuve) benutzt werden sollen.

Nur dadurch sei es möglich, die verschiedenen Pilzarten exakt zu vergleichen und zu differenzieren, weil ja die Pilze auf verschiedenen Nährböden ein immer verschiedenes Wachstum zeigten und dadurch ihre Artbestimmung schwer falle. Vor dem Kriege hatten sich sowohl in Deutschland als auch im Auslande seine Nährböden allgemein durchgesetzt. Von welchem Werte die Forderung S a b o u r a u d's war, zeigte weiterhin die Tatsache, daß auch heute noch seine Nährböden zur Differenzierung von pathogenen Pilzen bevorzugt werden.

Seine drei Standardnährböden haben folgende Zusammensetzung:

- 1.) Der Maltoseagar:

Maltose brute von Chanut in Paris	40,0
Peptone granulée von Chassaing	10,0
Agar	18,0
Wasser	1000,0
- 2.) Der Glukose-Nährboden:

Ersatz der Maltose durch Glukose.	
-----------------------------------	--
- 3.) Der Peptonagar:

Peptone granulée von Chassaing	30,0
Agar	18,0
Wasser	1000,0

Im Weltkriege war es in Deutschland nicht möglich, die Bestandteile der S a b o u r a u d - N ä h r b ö d e n aus Frankreich zu beziehen. Es hat nicht an Versuchen gefehlt, die ausländischen Materialien durch deutsche zu ersetzen. So wurden Bierwürze und deutsches Pepton in Anwendung gebracht. P l a u t empfahl im Jahre 1909 einen Nährboden mit folgender Zusammensetzung:

Traubenzucker	30,0
Agar	15,0
Pepton	10,0
Wasser	1000,0

Dieser Nährboden wurde dann im Kriege von W. F i s c h e r gebraucht. Ferner erprobte er die Bierwürze ohne Peptonzusatz, die neben gutem Wachstum auch eine weitgehende Differenzierung erlaubte. Später jedoch machten S a b o u r a u d und F i s c h e r die Erfahrung, daß die Zusammensetzung der Bier-

würze nicht immer konstant blieb, so daß sie nur einen mangelhaften Ersatz an Standardnährböden darstellen konnte.

Auch in den Jahren nach dem Kriege bereitete die Beschaffung der Materialien zu den Sabouraud-Nährböden immer noch recht große Schwierigkeiten. Grütz ist es dann nach langwierigen Versuchen kurz nach dem Kriege gelungen, einen Nährboden aus rein deutschen Materialien zusammenzusetzen, der der Forderung nach Konstanz und spezifischem Wachstum der Pilze gerecht wurde.

Die Brauchbarkeit der Grütz'schen Nährböden ist von einer Anzahl Autoren wie Karrenberg, Engelhardt, Hartmann, Schmidt u. a. bestätigt, so daß derselbe im allgemeinen in Deutschland heute zur Anwendung gelangt.

Die Zusammensetzung seiner Nährböden ist folgende: Als Kohlehydrat verwendet er das Nervinamalz der Firma C. C. Christiansen aus Flensburg und als Pepton das Pepton Knoll.

Nährboden I.

Pepton	5,0
Nervinamalz	80,0
Agar	18,0
Wasser	1000,0

Nährboden II.

Pepton	5,0
Traubenzucker	10,0
Glycerin	5,0
Na Cl	5,0
Agar	18,0
Wasser	1000,0

Nährboden III.

Pepton	5,0
Nervinamalz	60,0
Glycerin	5,0
Na Cl	5,0
Agar	18,0
Wasser	1000,0

Dem Sabouraud-Pepton-Nährboden entspricht (mit deutschem Pepton und ohne Malz)

Nährboden IV.

Pepton	30,0
Agar	18,0
Wasser	1000,0

Seit dem Erscheinen des Sabouraud'schen Werkes sind selbstverständlich immer noch eine große Anzahl neuer Pilznährböden empfohlen worden. Der Zweck, den die Verfasser dabei verfolgten, war, entweder verschiedene Wachstumsformen der Pilze zur Klärung zu bringen, oder aber pathogenetisch-epidemiologisch wichtige Fragen zu lösen. (Hruszek). So fügte beispielsweise Pollaci den eben angeführten Nährböden noch Rindfleischsaft hinzu. Falchi tritt mit einem Karotten-Nährboden an die Öffentlichkeit, der $\frac{1}{2}$ kg Karottendekokt in 1 Ltr. 2%igen Agar-Wassers und 1 % Pepton Witte enthält. Als

flüssige Nährböden sind Glucose-Maltose- und Bierwürzbouillon benutzt.

Im Laufe der Zeit wurde eine ganze Reihe neuer künstlicher Nährböden bekanntgegeben. Fast alle sind als Varianten der Sabouraud'schen Nährböden aufzufassen. Die Zusatzsubstanzen sind teilweise durch einheimische Materialien ersetzt oder es sind ihnen noch besondere Substanzen hinzugefügt worden.

So hat Sabouraud im Jahre 1925 selbst vorgeschlagen, an Stelle von Maltose resp. Glucose Bienenhonig treten zu lassen.

Peptone granulée	2,0
Bienenhonig	8,0
Agar	2,0
Wasser	100,0

Auch Pinelli und Pittalis glaubten, durch Zusatz von Honig zu den Pepton-Agar-Nährböden bessere Erfolge erzielen zu können, weil nach ihrer Ansicht außer Glucose, Fruktose, Saccharose und Dextrose organische und anorganische Substanzen die wachstumsfördernde Wirkung ausüben sollten. Manca Pastorino fügte dem Sabouraud-Nährboden einheimische Produkte hinzu wie: Citronen-, Orangen- und Erbsensaft. Er fand, daß die drei Säfte das Wachstum der Pilze nicht wesentlich beeinflussten, während die Hinzufügung von 5 % Erdnußöl oder Sterogyl das Wachstum beschleunigten, wobei er in dem Vitamin D den auslösenden Faktor sieht.

Neben den künstlichen Nährböden zur Pilzzüchtung wird in der Literatur immer wieder auf die natürlichen Nährböden verwiesen. Bei den natürlichen Nährböden kommen Naturprodukte in Frage, die in Kulturröhren sterilisiert werden. So erwähnt Karrenberg aus der Literatur Reisscheiben, Apfelscheiben und Holzstückchen für primäre Kulturen.

Ferner wird auch von Nasarova berichtet, daß die verbreitetsten Pilze in U.S.S.R. auf verschiedenen Nährböden gezüchtet würden, so z. B. auf Wolle, Haaren, Federn, Hafer- und Roggenähren. Das Wachstum sei teilweise sehr gut.

Vor einigen Monaten empfahl Hruszek in Deutschland wieder die natürlichen Nährböden. Seine Methodik ist kurz folgende: Kürbis-, Futterrüben-, Rettich-, Sellerie-, Mohrrüben-, Kartoffel- und Zwiebelschnitten werden in sterile Glasröhren gebracht, und diese werden dann an zwei aufeinander folgenden Tagen je 1 Stunde bei 110° sterilisiert. Er weist auf die Brauchbarkeit dieser Nährböden für Primär- und Passagekulturen hin.

Noch günstiger scheinen nach seinen Ausführungen zur Pilzzüchtung Saftagar-Nährböden. Die oben beschriebenen Naturalien werden durch eine Fleischmaschine geschickt, darauf erfolgt Filtration, Sterilisation und Agarzugabe.

Williams studierte das Wachstum von pathogenen Pilzen auf Haaren und Kopfschuppen von Kindern unter 12 Jahren vor und nach Aetherextraktion und vergleicht es mit dem auf Sabouraud-Nährböden. Er kommt zu dem Schluß, daß extrahierte Haare das Pilzwachstum fördern, vor allem Haare von Kindern unter 12 Jahren.

In den letzten Jahren ist auch über die Wasserstoffionenkonzentration der Nährböden in der Literatur wieder viel berichtet worden. Die Ansichten der einzelnen Autoren gehen auf diesem Gebiete ziemlich auseinander. Die einen halten eine bestimmte *ph*-Zahl der Nährböden für das Pilzwachstum als unerläßlich, andere wieder sind der Meinung, daß eine bestimmte *ph*-Zahl gar nicht notwendig sei. So sah beispielsweise B o u t e l l i e r ein gutes Wachstum von verschiedenen Pilzen bei *ph* = 5 bis 7,5, nicht aber bei *ph* = unter 4,4 und über 8.

T a k a h a s h i dagegen stellt fest, daß das Wachstum der Pilze von der Wasserstoffionenkonzentration nicht abhängig ist. Dieser Meinung schließt sich T a l i c e an. V á m o s kann an Hand von Untersuchungen beweisen, daß die Stämme von Mikrosporen, Epidermophyton, Trichophyton und Achorion am besten bei *ph* = 5,0—8,0 gedeihen. F l a v e r stellt das Optimum zwischen 6,9—7,9. Nach den neuen Forschungen von S c o l a r i gibt es für die einzelnen Pilzarten überhaupt kein sicheres *ph*-Optimum.

Ueber die Züchtungstemperatur erwähnt K a d i s c h, daß die beste Temperatur zwischen 25—32° liege. Dementsprechend ist eine Temperatur von etwa 27° die beste für das Wachstum von Pilzkulturen. Daraus ergibt sich auch, daß die niedrige Hauttemperatur günstig für die Entwicklung der Pilze ist. S z u l m a y s t e r kann die Untersuchungen von K a d i s c h bestätigen. Bei ihm befindet sich das Optimum ungefähr bei 26°. Auch durch J a d o s s o h n und A. S t ü h e l i n wurden die Versuche K a d i s c h's bekräftigt. Von ihnen wurden Meerschweinchen in Brutschränke von 34—41° gebracht. Die Tiere, die mit Achorion Quinkeaneum infiziert waren, bekamen eine Rektaltemperatur von 39—41°, Kontrolltiere, ebenfalls mit Achorion Quinkeaneum infiziert, wurden bei Zimmertemperatur gehalten. Es stellte sich heraus, daß bei ersteren die Inkubationszeit erheblich länger war als bei den Kontrolltieren, ebenso waren die entzündlichen Erscheinungen viel schwächer. Bei den Brutschranktieren ergab auch die histologische Untersuchung ein viel geringeres Pilzwachstum als bei den Kontrolltieren.

Wenn zu diesem Thema nochmal das Wort ergriffen wird, so geschieht es aus dem Grunde, daß es besonders schwierig ist, die Diagnose Epidermophytie zu sichern. Durch die neueren Untersuchungen über die Pilzkrankungen an Händen und Füßen sind die Kenntnisse auf diesem Gebiete bedeutend erweitert worden. Aber noch wartet eine große Anzahl von Fragen ihrer Beantwortung, so z. B., ob bei negativen Untersuchungsergebnissen an

den Händen, bei positivem Pilzbefund an den Füßen die Hautausschläge an den Händen allergisch bedingt sind und somit als Epidermophytide aufzufassen sind. Weiter interessiert, welche Formen die Ekzemen und wie häufig sie ihre Grundursache in dem Vorhandensein von Pilzen haben. Diese Fragen hat P. W. Schmidt in seiner Arbeit zu beantworten versucht.

Auf Grund einer Reihe von groß angelegten kulturellen Versuchen konnte von ihm als Ergebnis mitgeteilt werden, daß man in weit größerem Ausmaß die Pilze durch die Kultur nachweisen kann, als man bisher vermutete. Das Züchtungsergebnis bei dyshydrosiformen, squamösen und hyperkeratotischen Veränderungen an den Füßen war zu 73 % positiv. Der Nachweis von Pilzen an den Händen ist recht schwierig, weil durch das Waschen die pilzhaltigen Schuppen beseitigt werden und das Wachstum gehemmt wird. Auch hier weist P. W. Schmidt auf die Vorzüge des Kulturverfahrens hin, weil es ihm in einer relativ großen Zahl der Fälle gelang, aus dem Material der Hände den Pilz zu züchten.

Das Problem bleibt aber immer noch, die Leistungsfähigkeit der Nährböden noch weiter zu steigern. Man muß bestrebt sein, mehrere Nährböden zu schaffen, die das Wachstum der Pilze günstiger erscheinen lassen und schneller sichern, wobei bei Verimpfung von menschlichem und tierischem Material noch Wert darauf zu legen ist, daß Bakterien und Schimmelpilze möglichst zurückgehalten werden. Selbstverständlich wird die Differenzierung unklarer Kulturen mit den bereits bekannten Sabouraud'schen und Grütz'schen Nährböden durchzuführen sein.

Im folgenden soll zu dieser Frage durch Vergleich der Wachstumsgeschwindigkeit der Pilze auf verschiedenen Nährböden ein Bild gewonnen werden. Dabei war zu wünschen, neben den gebräuchlichen Nährböden die natürlichen zu benutzen. Letztere müssen gerade wegen ihrer billigen Herstellungsart in Betracht gezogen werden, weil, wie schon anfangs erwähnt, vorläufig von dem Gebrauch einer großen Zahl von Kulturröhrchen nicht Abstand genommen werden kann. Vor allen Dingen interessieren deswegen die natürlichen Nährböden, wie sie beispielsweise Falchi, Hruszek und andere Autoren angegeben haben.

In ähnlicher Form wurden als natürliches Substrat auch von mir Haferflockenbrei und Weizenkleie herangezogen. Die Nährböden haben folgende Zusammensetzung:

I. Pepton Knoll	5,0
Haferflockenbrei	
(stark eingedampft zu festem Brei)	900,0
Agar	30,0
Wasser	1000,0

Farbe des Nährboden: weißlich bis hellgelb.
Oberfläche: glatt.

$$p_h = 6.2$$

II. Haferflockenbrei	900,0
(wie oben)	
Agar	30,0
Wasser	1000,0
Farbe des Nährbodens: weißlich bis hellgelb.	
Oberfläche: glatt.	

$$P_h = 6,1$$

III. Grütz-Maltose-Nährboden	1000,0
Haferflockenbrei (wie oben)	900,0
Farbe des Nährbodens: gelb bis hellbraun.	
Oberfläche: glatt.	

$$P_h = 6,1$$

IV. Pepton Knoll	5,0
Weizenkleie	80,0
Agar	30,0
Wasser	1000,0

Farbe des Nährbodens: hellbraun.
Oberfläche: glatt.

$$P_h = 5,4$$

V. Weizenkleie	80,0
Agar	30,0
Wasser	1000,0

Farbe des Nährbodens: hellbraun.
Oberfläche: glatt.

$$P_h = 5,4$$

VI. Grütz-Maltose-Nährboden	1000,0
Weizenkleie	80,0

Farbe des Nährbodens: rotbraun.
Oberfläche: glatt.

$$P_h = 5,6.$$

Entsprechend den Erfahrungen Williams wurden dem Grütz - Maltose - Nährboden Meerschweinchenhaare hinzugesetzt:

VII. Grütz-Maltose-Nährboden	1000,0
Meerschweinchenhaare	0,5

$$P_h = 5,2$$

An anderen Nährböden wurde noch benutzt:

VIII. Brotteignährboden	
zerkleinertes Roggenbrot	50,0
Agar	30,0
Wasser	1000,0

$$P_h = 5,9$$

IX. Wurzeldekot nach Falchi	
Wurzeldekot	500,0
Agar	30,0
Pepton	10,0
Wasser	1000,0

$$P_h = 5,3$$

X. Bierwürznährboden	
1 Ltr. Bierwürze	
Agar	20,0
Pepton	10,0

$$P_h = 5,1$$

XI—XII. Mohrrüben- und Rettichschnitten nach Hruszek.

Die Schnitten wurden an zwei aufeinanderfolgenden Tagen je 1 Stunde bei 110° in sterilen Glasröhren sterilisiert.

Als Vergleichsnährböden dienten mir:

XIII. Sabouraud-Maltose-Nährboden

$$p_h = 4,8$$

XIV. Sabouraud-Honig-Nährboden

$$p_h = 4,9$$

XV. Grütz-Maltose-Nährboden

$$p_h = 5$$

Die Züchtungstemperatur lag durchschnittlich bei 19—20° C, für das Trichophyton faviformen 1—2° höher.

Die Beimpfung der Nährböden geschah in der Art, daß von einer 4 Wochen alten Stammkultur mittels einer Stopfnadel ein ½—1 mm großes Stück Material verimpft wurde. Durch das feine exakte Verimpfung fiel es hinterher nicht schwer, die Wachstumsgrößen der Kulturen zahlenmäßig in Millimetern genau festzulegen. Gemessen wurde jeweils die Länge und Breite der Kulturen. Beschriftet wurden jedesmal je 12 Röhrchen mit dem Kaufmann-Wolf Pilz, Trichophyton gypsum, Achorion Quinkeaneum und Trychophyton faviforme. Um das Ineinanderwachsen der Kulturen zu verhindern, wurde jeder Nährboden nur einmal beimpft.

Das Ergebnis ist in der nachfolgenden Tabelle niedergelegt. Die Zahlen geben die Durchschnittsgröße der Pilzkulturen an. Größere Unterschiede waren im allgemeinen selten.

Uebersicht über die Kulturgrößen des Kaufmann-Wolf Pilzes, des Trichophyton gypsum und des Achorion Quinkeaneum.

Das Wachstum der Pilze auf:		Das Wachstum nach 2 Tagen	Größe der Kulturen nach:								
			5 Tg. L. B.		8 Tg. L. B.		11 Tg. L. B.		16 Tg. L. B.		
Sabouraud- Malt. N.	Kaufmann-Wolf	+	+	2	2	6	6	24	14	32	14
	Trich. gyps.	+		6	6	10	9	23	14	32	14
	Ach. Quink.	+		2	2	4	4	12	11	23	12
Kleie N. + Pepton	Kaufmann-Wolf	+	+	6	6	10	10	24	14	32	14
	Trich. gyps.	+	+	4	4	10	7	17	14	21	14
	Ach. Quink.	+	+	4	4	8	8	12	10	15	10
Kleie N. ohne Pepton	Kaufmann-Wolf	+	+	2	2	4	4	13	10	20	14
	Trich. gyps.	+	+	4	4	10	6	16	14	20	14
	Ach. Quink.	+	+	2	2	6	6	13	11	30	14
Grütz-Malt. N. + Kleie	Kaufmann-Wolf	+		2	2	8	8	21	14	32	14
	Trich. gyps.	—		8	8	10	7	23	14	36	14
	Ach. Quink.	+		2	2	6	6	13	11	20	14
Haferfl. Dek. N. + Pepton	Kaufmann-Wolf	+	+	2	2	6	6	20	10	20	14
	Trich. gyps.	+	+	6	6	7	6	10	6	25	10
	Ach. Quink.	+	+	4	4	6	6	7	6	18	8
Haferfl. Dek. N. ohne Pept.	Kaufmann-Wolf	+		2	2	6	6	13	13	20	14
	Trich. gyps.	+		2	2	6	2	7	4	8	4
	Ach. Quink.	+		2	2	4	4	5	5	7	7

Das Wachstum der Pilze auf:		Das Wachstum nach 2 Tagen	Größe der Kulturen nach:								
			5 Tg.		8 Tg.		11 Tg.		16 Tg.		
			L.	B.	L.	B.	L.	B.	L.	B.	
Grütz-Malt. N. + Haferfl. Dek.	Kaufmann-Wolf	+	+	2	2	8	8	23	14	28	14
	Trich. gyps.	+	+	8	8	10	8	18	14	23	14
	Ach. Quink.	+		4	4	4	4	9	9	11	10
Sabouraud- Honig N.	Kaufmann-Wolf	+	+	4	4	8	8	24	14	32	14
	Trich. gyps.	+		6	6	10	9	22	14	30	14
	Ach. Quink.	+		4	4	6	6	14	11	30	14
Grütz- Malt. N.	Kaufmann-Wolf	+	+	4	4	6	6	22	14	30	14
	Trich. gyps.	—		6	6	6	6	12	10	26	14
	Ach. Quink.	+	+	4	4	6	6	10	10	21	12
Bierwürz- nährboden	Kaufmann-Wolf	+	+	4	4	6	6	21	14	28	14
	Trich. gyps.	—		2	2	5	2	20	14	25	14
	Ach. Quink.	—		2	2	3	3	14	10	18	14
Mohrrüben- schnitten nach Hruszek	Kaufmann-Wolf	+	+	2	2	3	3	11	11	16	16
	Trich. gyps.	—		4	4	4	4	11	11	18	14
	Ach. Quink.	—		2	2	4	4	11	5	15	10
Mohrrüben- dek. nach Falschi	Kaufmann-Wolf	+	+	2	2	6	6	12	12	20	14
	Trich. gyps.	—		2	2	7	3	11	5	18	8
	Ach. Quink.	+	+	2	2	6	6	7	7	12	11

Zeichenerklärung:

+ = beginnendes Wachstum, ++ = gut beginnendes Wachstum,
 +++ = sehr gut beginnendes Wachstum, — = kein Wachstum,
 L = Länge, B = Breite, N = Nährboden.

Das Züchtungsergebnis für das Trichophyton faviforme.

Das Wachstum des Trichophyton faviforme	Das Wachstum nach 5 Tg.	Durchmesser der Kulturen (in mm) nach				
		9 Tg.	12 Tg.	15 Tg.	20 Tg.	25 Tg.
Sabouraud-Honig N.	—	2	3	6	11	12
Sabouraud-Maltose N.	+	4	5	6	10	11
Grütz-Maltose N.	+	4	6	7	11	12
Brotteignährboden						
nach Frischbier	—	4	6	6	12	14
Grütz-Maltose N.						
+ Haferflocken Dekokt	+	2	4	6	10	12
Kleie N. + Pepton	+++	6	8	9	11	12
Kleie N. ohne Pepton	+	4	6	8	10	11
Grütz-Malt. N. + Kleie	+	4	5	6	10	11
Mohrrübendekokt N.						
nach Falchi	+	2	4	5	7	8
Mohrrübenschnitten		Wachstum stehen				
nach Hruszek	+	geblieben				
Rettichschnitten						
nach Hruszek	+	kein weiteres Wachstum				
Grütz-Maltose N.						
+ Meerschweinchenhaare	+	4	6	8	12	14

Zeichenerklärung:

+ = beginnendes Wachstum, ++ = gut beginnendes Wachstum,
 +++ = sehr gut beginnendes Wachstum, — = kein Wachstum,
 L = Länge, B = Breite, N = Nährboden.

In den folgenden Tabellen sind die Nährböden, die sich hinsichtlich Anfangsgeschwindigkeit und Endgeschwindigkeit im

Wachstum besonders günstig zeigten, nochmals wieder zusammengefaßt:

Der Kaufmann-Wolf Pilz zeigt folgendes Bild:

Das Wachstum des Kaufmann-Wolf Pilzes auf:	Größe der Kulturen (in mm) nach			
	4 Tagen		16 Tagen	
	Länge	Breite	Länge	Breite
Sabouraud-Maltose N.	2	2	32	14
Sabouraud-Honig N.	4	4	32	14
Grütz-Maltose N.	4	4	30	14
Kleie-Nährboden				
+ Peptonzusatz	6	6	32	14
Grütz-Maltose N.				
+ Kleie	2	2	32	14

Aus der Tabelle ist ersichtlich, daß die Anfangsgeschwindigkeit des Kaufmann-Wolf Pilzes auf dem Kleienährboden mit Peptonzusatz besonders gut ist. Zu einem späteren Zeitpunkte gleichen sich allerdings die Unterschiede wieder aus.

Für das *Trichophyton gypseum* ergeben sich folgende Versuchsergebnisse:

Das Wachstum des <i>Trichophyton gypseum</i> auf:	Größe der Kulturen (in mm) nach			
	4 Tagen		16 Tagen	
	Länge	Breite	Länge	Breite
Sabouraud-Maltose N.	6	6	32	14
Sabouraud-Honig N.	6	6	30	14
Grütz-Maltose N.	6	6	26	14
Grütz-Maltose N.				
mit Kleiezusatz	8	8	36	14
Haferflockenbrei N.				
mit Peptonzusatz	6	6	25	14

Das *Trichophyton gypseum* zeigt also auf dem Grütz-Maltose Nährboden mit Kleiezusatz das günstigste Wachstum. Diese Ueberlegenheit wird bis zum 16. Tage nicht nur gehalten, sondern noch vergrößert.

Für das *Achorion Quinkeaneum* müssen folgende Zahlen festgelegt werden:

Das Wachstum des <i>Achorion Quinkeaneum</i> auf:	Größe der Kulturen (in mm) nach			
	4 Tagen		16 Tagen	
	Länge	Breite	Länge	Breite
Sabouraud-Maltose N.	2	2	23	12
Sabouraud-Honig N.	4	4	30	14
Grütz-Maltose N.	4	4	21	12
Kleie-Nährboden				
ohne Pepton	2	2	30	14
Grütz-Maltose N.				
mit Kleiezusatz	2	2	20	14

Die Kleie- und Haferflockenbrei-Nährböden sind beim Archorion Quinkeaneum für die Anfangsgeschwindigkeit des Wachstums offenbar nicht so vorteilhaft. Der Mangel wird aber dadurch ausgeglichen, daß sich am Schluß der Untersuchung auf dem Kleienährboden (ohne Peptonzusatz) die gleiche Kulturgröße wie auf dem Sabouraud-Honignährboden ergab, und daß der Sabouraud-Maltose- und Grütz-Maltosenährboden von ihm sogar bei weitem übertroffen wurde.

Das Trichophyton faviforme verhält sich wie folgt:

Das Wachstum des Trichophyton faviforme auf:	Größe der Kulturen (in mm)	
	nach 9 Tagen	nach 25 Tagen
Sabouraud-Maltose N.	4	11
Sabouraud-Honig N.	2	12
Grütz-Maltose N.	4	12
Brotteignährboden	4	14
Kleienährboden m. Peptonzusatz	6	12
Grütz-Maltose N. mit Meerschweinchenhaaren	4	14

Die Züchtung des Trichophyton faviforme ist bekanntlich schwierig und langwierig. So konnte man auf allen Nährböden erst am 5. Tage ein recht schwaches Wachsen bemerken. Eine Ausnahme machte das Trichophyton faviforme auf dem Kleienährboden mit Peptonzusatz, auf dem es schon am 5. Tage ein außerordentlich gutes Wachstum aufwies. Auch nach 9 Tagen bis zum 15. Tage war die Kultur an Größe den übrigen überlegen, dann aber läßt das Wachstum nach und es erweisen sich der Brotteig- und Grütz-Maltosenährboden mit Meerschweinchenhaarenzusatz als die besten. Zu bemerken ist die Tatsache, daß die Kultur auf dem Sabouraud-Maltose- und Honignährboden, ebenso auf dem Grütz-Maltose Haferflockenbrei-Nährboden den Farbenton einer Wachskerze aufwies. Auf dem Glukoseagar wächst nach Jadossow das Trichophyton faviforme in der Masse des Nährbodens und bildet drei getrennte Zonen: eine weiße, pulverige Zone und einen ungefärbten Rand mit strahligen Ausläufern. Dieses makroskopische Aussehen konnte auf den übrigen von mir verwandten Nährböden deutlich beobachtet werden. Eine Rückimpfung auf den Sabouraud-Maltosenährboden ergab selbstverständlich wieder den Farbenton einer Wachskerze.

Um die Versuchsbedingungen denen der Praxis anzugleichen, wurde bei meinen weiteren Versuchen das Material eines mit Trichophyton gypseum und Trichophyton faviforme cutan infizierten Meerschweinchens als Ausgangsmaterial gebraucht. Von jedem Nährboden wurden jedesmal 13 Röhrchen mit dem infizierten Schuppen- und Haar material beimpft. Meist liegt wie in der Praxis die Schwierigkeit darin, daß bei der Verimpfung von Schuppen und Haaren auch Schimmelpilze und Soor resp. Hefen

mitverimpft werden. Für beide ist der kritische Zeitpunkt etwa der 4. bis 5. Tag, an dem die angegangenen Schimmelpilze das Ausgangsmaterial überwuchern und das Wachstum der pathogenen Pilze zunichte machen. An diesem Tage wurde überall dort, wo Pilzwachstum zu bemerken war, eine Ueberimpfung der steril gebliebenen Schuppen vorgenommen.

Die in den bisherigen Versuchen ausgewerteten Nährböden wurden auch zur Kultivierung des *Trichophyton gypseum* und des *Trichophyton faviforme* aus dem Schuppen- und Haarmaterial benutzt. Die Züchtung des *Trichophyton gypseum* gelang auf allen Nährböden, die des *Trichophyton faviforme* mit Ausnahme des Bierwürz- und Haferflockenbreibodens (ohne Peptonzusatz). Daß der eine oder andere Nährboden bei der Züchtung des *Trichophyton faviforme* ausfallen würde, war vorauszusehen, weil, wie anfangs schon betont, der Pilz durch sehr langsames Wachstum bekannt ist. Um überhaupt die Kultivierung des *Trichophyton faviforme* auf den übrigen Nährböden zu erzielen, mußte man das infizierte Material in kleinen Mengen und in möglichst großen Abständen auf die Röhrchen bringen, um einer Ueberwucherung der steril gebliebenen Schuppen oder Haare durch Schimmel vorzubeugen.

Wie schon erwähnt, wurde bei dem Tierversuch am 4. oder 5. Tage eine Ueberimpfung der angegangenen Pilze vorgenommen. In den Tagen vor der Ueberimpfung wurde genau darauf geachtet, ob irgend in Nährboden für das *Trichophyton gypseum* und das *Trichophyton faviforme* durch eine besondere Anfangsgeschwindigkeit ausgezeichnet war. Es hat sich hierbei gezeigt, daß die Anfangsgeschwindigkeit des Pilzwachstums auf den Nährböden fast überall die gleiche war.

Uebersicht über das beginnende Wachstum des *Trichophyton gypseum* und des *Trichophyton faviforme*.

Das Wachstum des <i>Trichophyton gypseum</i> und des <i>Trichophyton faviforme</i> auf:	<i>Trichophyton gypseum</i>		<i>Trichophyton faviforme</i>	
	das Wachstum nach		das Wachstum nach	
	2 Tagen	4 Tagen	2 Tagen	4 Tagen
	Durchmesser in mm			
Sabouraud-Maltose N.	+	3	—	+
Sabouraud-Honig N.	+	3	—	+
Grütz-Maltose N.	+	2	—	+
Kleie-Nährboden mit Peptonzusatz	+	2—3	—	+
Kleie-Nährboden ohne Peptonzusatz	+	2	—	+
Grütz-Maltose-N. mit Kleiezusatz	+	3	—	+
Haferflockenbrei N. mit Peptonzusatz	+	2	—	+

Das Wachstum des Trichophyton gypseum und des Trichophyton faviforme auf:	Trichophyton gypseum		Trichophyton faviforme	
	das Wachstum nach		das Wachstum nach	
	2 Tagen	4 Tagen	2 Tagen	4 Tagen
	Durchmesser in mm			

Haferflockenbrei N.				
ohne Peptonzusatz	—	2	—	—
Grütz-Maltose-N.				
mit Haferflockenbrei	+	3	—	+
Mohrrübindekokt (nach Falchi)	+	2	—	+
Mohrrübenschnitten (nach Hruszek)	—	1—2	—	+
Bierwürz-N.	+	2	—	—

Zeichenerklärung:

+ = beginnendes Wachstum, ++ = gut beginnendes Wachstum,
 +++ = sehr gut beginnendes Wachstum, — = kein Wachstum,
 L = Länge, B = Breite, N = Nährboden.

Vergleicht man nun das Wachstum des Trichophyton gypseum und des Trichophyton faviforme aus Versuch I, bei dem von einer Laboratoriumskultur verimpft wurde, mit den Ergebnissen der Wachstumsgeschwindigkeit bei diesem natürlichen Ausgangsmaterial, so stellen sich besonders für das Trichophyton gypseum erhebliche Unterschiede heraus. Als bester Nährboden für das Trichophyton gypseum zeigt sich im Gegensatz zu Versuch I der Grütz - Maltose - Haferflockenbrei - Nährboden. Beim Trichophyton faviforme waren keine erheblichen Unterschiede von Versuch Ia feststellbar, worüber die folgende Tabelle Aufschluß gibt:

Gegenüberstellung der Wachstumsgröße
 des Trichophyton gypseum aus Versuch I und dem Tierversuch.

Das Wachstum des Trichophyton gypseum auf:	Die Größe der Trichophyton gypseum Kultur (in mm)			
	nach 16 Tagen			
	Versuch I		Tierversuch	
	Länge	Breite	Länge	Breite
Sabouraud-Maltose N.	32	14	27	14
Sabouraud-Honig N.	30	14	28	14
Grütz-Maltose N.	26	14	30	14
Kleie-Nährboden				
mit Peptonzusatz	21	14	18	13
Kleie-Nährboden				
ohne Peptonzusatz	20	14	14	14
Grütz-Maltose-Nährboden				
mit Kleiezusatz	36	14	25	14
Haferflockenbrei N.				
mit Peptonzusatz	25	10	18	10

Das Wachstum des Trichophyton gypseum auf:	Die Größe der Trichophyton gypseum Kultur (in mm) nach 16 Tagen			
	Versuch I		Tierversuch	
	Länge	Breite	Länge	Breite
Haferflockenbrei N. ohne Peptonzusatz	8	4	18	14
Grütz-Maltose N. mit Haferflockenbrei	23	14	31	14
Mohrrübindkokt nach Falchi	18	8	23	13
Mohrrübenschnitten nach Hruszek	18	14	15	8
Bierwürz-N.	25	14	26	14

Uebersicht über die Kulturgröße des Trichophyton faviforme bei Versuch I und beim Tierversuch.

Das Wachstum des Trichophyton faviforme auf:	Durchmesser der Kultur des Trichophyton faviforme (in mm) nach 12 Tagen	
	Versuch I	
	Tierversuch	
Sabouraud-Maltose N.	5	5
Sabouraud-Honig N.	3	3—4
Grütz-Maltose N.	6	6
Kleie-Nährboden mit Peptonzusatz	8	7—8
Kleie-Nährboden ohne Peptonzusatz	6	4
Grütz-Maltose-Nährboden mit Kleiezusatz	5	5
Haferflockenbrei N. mit Peptonzusatz	—	3
Grütz-Maltose N. mit Haferflockenbrei	4	3
Mohrrübindkokt nach Falchi	4	4
Mohrrübenschnitten nach Hruszek	—	1
Grütz-Maltose N. mit Meerschweinchenhaaren	6	5—6

Im folgenden sei das Ergebnis meiner Untersuchungen kurz zusammengefaßt. Um die Brauchbarkeit einer Anzahl von Nährböden für das Wachstum von pathogenen Hautpilzen festzustellen, wurden vergleichende Untersuchungen über die Wachstumsgeschwindigkeit der Pilze in der Form angestellt, daß die Größe der Kulturen in bestimmten Zeitabschnitten in Millimetern festgelegt wurde. Als Material wurden zunächst 4 Wochen alte Laboratoriumsstämme des Kaufmann-Wolf-Pilzes, Trichophyton

gypseum, Achorion Quinkeaneum und Trichophyton faviforme verwandt. Neben den zur Pilzzüchtung allgemein gebräuchlichen Nährböden kamen auch solche mit natürlichen Zusätzen, wie Kleie und Haferflockenbrei, zur Verwendung. So wurden solche Nährböden geprüft, die außer Agar und Peptonzugabe nur Kleie und Haferflockenbrei als Hauptbestandteil enthielten. Ferner wurde untersucht, ob die Leistungsfähigkeit des Grütz-Maltose-Nährbodens durch Hinzufügung dieser natürlichen Materialien noch zu steigern war.

Die Versuche mit den Laboratoriumsstämmen haben gezeigt, daß die Nährböden mit Kleie und Haferflockenbreizusatz hinsichtlich des Wachstums der Pilze den drei Standardnährböden Sabouraud-Maltose-, Sabouraud-Honig- und Grütz-Maltose-Nährboden nicht nur gleichzusetzen, sondern sogar, zumindest was die Anfangsgeschwindigkeit anbetraf, überlegen waren. Diese Ueberlegenheit in der Anfangsgeschwindigkeit zeigte sich besonders bei dem Kaufmann-Wolfschen Pilz auf dem Kleie-Nährboden mit Peptonzusatz. Daß die Leistungsfähigkeit des Grütz-Maltosenährbodens durch Zusatz von natürlichen Substanzen für gewisse Pilzarten noch zu steigern ist, ergibt sich besonders aus dem Wachstum des Trichophyton gypseum. Es ist nämlich auf dem Grütz-Maltosenährboden mit Kleiezusatz an Anfangsgeschwindigkeit sowohl dem auf dem eigentlichen Grütz-Maltosenährboden als auch dem auf allen übrigen weit überlegen. Auch nach 16 Tagen ergibt die Trichophyton gypseum Kultur den größten Umfang auf dem Grütz-Maltosenährboden mit Kleiezusatz. Für das Trichophyton faviforme ist der Kleienährboden mit Peptonzusatz der günstigste. Er übertraf hinsichtlich der Anfangsgeschwindigkeit bei weitem alle übrigen Nährböden. Auch bei diesem Pilz konnte die Leistungsfähigkeit des Grütz-Maltosenährbodens durch Zusatz einer natürlichen Substanz, nämlich Meerschweinchenhaaren, gesteigert werden.

Wichtig erscheint mir vor allen Dingen bei meinen Versuchen die Feststellung, daß man durch einen so gut zu erhaltenden Stoff, wie die Weizenkleie, das Wachstum wenigstens für bestimmte Arten von Pilzen steigern kann. Wesentlich ist vor allem die Tatsache, daß dieser Stoff die Anfangsgeschwindigkeit im Wachstum erhöht, was besonders für Serienuntersuchungen von Nutzen sein kann. Hier kommt es ja vielfach darauf an, daß man den pathogenen Pilz möglichst schnell erhält, weil sonst durch Ueberwuchern der bei solchen Versuchen nicht zu vermeidenden Schimmelpilze das Wachstum der pathogenen Pilze verhindert und damit die Diagnose zunichte gemacht wird.

Die weiteren Versuche sollten Aufklärung darüber geben, ob diese Vorteile beim Zusatz von Naturalien zu den Nährböden auch erhalten blieben, wenn als Ausgangsmaterial pilzhaltige tierische Produkte aus Krankheitsherden zur Verwendung gelangten.

Zu diesem Zwecke wurden bei Meerschweinchen cutane Impfungen mit *Trichophyton gypseum* und *Trichophyton faviforme* vorgenommen. Um die Bedingungen denen der Praxis gleichzusetzen, gelangten Schuppen und Haar dieser infizierten Tiere zur Verimpfung. Allerdings darf auch bei diesem Versuch die Möglichkeit nicht außer acht gelassen werden, daß die betreffenden Stämme (*Trichophyton gypseum* und *Trichophyton faviforme*) lange Zeit auf künstlichen Nährböden gehalten worden waren. Es könnte dadurch ein gewisses Anpassungsvermögen an die künstlichen Nährböden sich herausgebildet haben.

Der Tierversuch zeigt im Gegensatz zum Laboratoriumsversuch, daß durch natürliche Zusätze zu den gebräuchlichen Nährböden, wie Kleie und Haferflockenbrei, keine wesentliche Besserung gegenüber den Standardnährböden erzielt wurde. Eine Ausnahme macht vielleicht das *Trichophyton faviforme*, das auf dem Kleienährboden mit Peptonzusatz durch gutes und schnelles Wachstum auffiel.

Das Verschimmeln der Nährböden, das bei der Verimpfung von natürlichem Material, besonders von Tieren, fast immer auftritt, wurde selbstverständlich auch nicht durch den Zusatz von natürlichen Substanzen verhindert. Das Verschimmeln war, wie das bekannt ist, bis jetzt nur dadurch zu verhüten, daß man die Impftechnik noch mehr verfeinerte. Das möglichst zerkleinerte Material ist in großen Abständen auf die Nährböden zu bringen. Am vierten oder fünften Tage, an dem die Verschimmung der Nährböden sich am meisten auswirkt, ist eine Ueberimpfung angegangener Pilze, wie das in meinen Versuchen ausgeführt wurde, oft nicht zu umgehen.

Aus dem Gesagten ist zu ersehen, daß die Nährbodenfrage für Serienzüchtungen noch nicht als gelöst zu betrachten ist. Vielleicht könnten diese den Nährböden anhaftenden Mängel durch Zusatz von anderen Stoffen vermindert werden, und es sind weitere Untersuchungen, die in diese Richtung zielen, wünschenswert.

Am Schluß gestatte ich mir, Herrn Professor Dr. Schmidt für die Ueberlassung des Themas und für die freundliche Beratung bei dieser Arbeit meinen besten Dank auszusprechen.

Literaturverzeichnis.

- Boutellier: Siehe Bruhns: Uebersicht über die neueren Ergebnisse und Fortschritte auf dem Gebiete der Mykologie. Zentrbl. f. H. u. G. Bd. 41. 16.
- Engelhardt, W.: Handbuch für Haut- und Geschlechtskrankheiten von Jadossohn Bd. 11 Dermatomykosen S. 99.
- Falchi, G.: Handbuch für Haut- und Geschlechtskrankheiten von Jadossohn Bd. 11 Dermatomykosen S. 103.
- Fischer, W.: Handbuch für Haut- und Geschlechtskrankheiten von Jadossohn Bd. 11 Dermatomykosen S. 98. 99.
- Frischbier: Siehe Bruhns: Uebersicht über die neueren Ergebnisse und Fortschritte auf dem Gebiete der Mykologie. Zentrbl. f. H. u. G. Bd. 41. S. 5.
- Grütz, O.: Beiträge zur Kultur der Dermatophyten und ihrer Artunterscheidung mittels deutscher Pilznährböden. Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 8 S. 568.
- Hartmann, E.: Handbuch für Haut- und Geschlechtskrankheiten von Jadossohn Bd. Dermatomykosen S. 99.
- Hruszek, H.: Vergleichende Kulturen von Pilzen auf verschiedenen natürlichen Nährböden. Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 171 2. Heft S. 161—171.
- Ueber vergleichende Kulturen von Dermatomyceten und anderen Erregern auf neuen vereinfachten Nährböden. (Saft-Agar-Nährböden). Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 171, 3. Heft S. 260—62.
- Jadossohn, W. und A. Stähelin: Der Einfluß der Temperatur auf das Angehen der Trichophysie beim Meerschweinchen. Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 161, S. 146.
- Kadisch, E.: Zentrbl. f. H. u. G. Bd. 41, S. 17.
- Karrenberg, K. L.: Handbuch für Haut- u. Geschlechtskrankheiten von Jadossohn Bd. 11 Dermatomykosen S. 99 u. 104.
- Manca Pastorino, V.: Tereni vitaminati e sviluppo di determinati miceti. Ref. Zentrbl. f. H. u. G. Bd. 42, S. 745.
- Nasarova, E.: Zur Morphologie u Biologie der in saprophytischen Verhältnissen vegetierenden Dermatophyten. Ref. Zentrbl. f. H. u. G. Bd. 47, S. 73.
- Pinelli, L. und Pittalis, F.: Substrati di coltura al miele per lo studie dei miceti. Ref. Zentrbl. f. H. u. G. Bd. 45, S. 360.
- Pollaci, G.: Handbuch für Haut- und Geschlechtskrankheiten von Jadossohn Bd. 11 Dermatomykosen S. 102.
- Plaut, H.: Handbuch der Hautkrankheiten. Herausg. von Prof. Dr. F. Mracek, Bd. 4, S. 26.
- Sabouraud, R.: Handbuch f. Haut- u. Geschlechtskrankheiten von Jadossohn Bd. 11 Dermatomykosen S. 98—101.
- Scolari: Zentrbl. f. Haut- u. Geschlechtskr. Bd. 41, S. 17.
- Schmidt, P. W.: Zur Pathogenese der Epidermophytien und Trichophyten der Hände und Füße unter besonderer Berücksichtigung der ekzematischen Hautveränderungen mit Kulturergebnissen von 732 Fällen. Arch. f. Derm. u. Syph. Bd. 169. 2. Heft, 259.
- Dermatomykosen. Dermatologische Zeitschr. Bd. 66, Heft 3, S. 242.
- Dermatomykosen. Dermatologische Zeitschr. Bd. 69, S. 162.
- Szulmayer, E.: Przegl. dermat. (poln.) Bd. 25, S. 442/448. Ref. Zentrbl. f. Haut- u. Geschlechtskrankh. Bd. 41, S. 18.
- Takahashi, S.: Cent. J. of Dermat. Bd. 28, S. 85/97, ref. Zentralbl. f. Haut- und Geschlechtskrankh. Bd. 41 S. 18.
- Talice, R. V.: Ann. de Parasitol. Bd. 8, S. 183. Ref. Zentrbl. für Haut- u. Geschlechtskrankh. Bd. 41, S. 1.
- Vamos, L.: Zentrbl. f. Haut- und Geschlechtskrankh. Bd. 41, S. 16.
- Williams, Joh.: Scalp products and hair before puberty as culture for certain pathogenic fung. Zentrbl. f. Haut- u. Geschlechtskrankh. Bd. 49 S. 550.

Lebenslauf.

Am 15. Februar 1911 wurde ich zu Gelsenkirchen als Sohn des Direktors Fritz Kränzlin und seiner Ehefrau Anna, geb. Marten geboren. Nach 4jähriger Vorschulzeit besuchte ich von Ostern 1921 bis Ostern 1931 das humanistische Gymnasium zu Gelsenkirchen, an dem ich auch die Reifeprüfung bestand.

Dann widmete ich mich dem Studium der Zahnheilkunde in Freiburg und bestand am Ende des Sommersemesters 1933 die zahnärztliche Vorprüfung. In dem ersten klinischen Semester studierte ich an der Universität Rostock. Die beiden folgenden Semester verbrachte ich wieder in Freiburg, wo ich im November 1934 das zahnärztliche Staatsexamen bestand.

